

Pengaruh Pasta Tomat (*Solanum lycopersicum*) terhadap Diameter Tubulus Seminiferus Mencit (*Mus musculus*) Galur DDY yang Terpajan Asap Rokok Berfilter

Sri Utami Sugeng¹, Hartini Tiono², Vikie N. Anandaputri³

¹Bagian Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,

²Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,

³Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha,

Jl. Prof. drg. Suria Sumantri MPH No. 65 Bandung 40164 Indonesia

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pasta tomat (*Solanum lycopersicum*) terhadap diameter tubulus seminiferus mencit jantan galur DDY yang terpajan asap rokok berfilter. Penelitian ini menggunakan metode prospektif eksperimental laboratorium sungguhan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang bersifat komparatif. Dua puluh lima ekor mencit jantan galur DDY dibagi secara acak dalam 5 kelompok perlakuan (n=5). Pada hari pertama kelompok kontrol akuades dan kontrol asap rokok berfilter diberi akuades, sedangkan tiga kelompok pasta tomat diberi pasta tomat yang dilarutkan dalam akuades dengan dosis 0,16 g, 0,32 g, dan 0,48 g secara per oral. Pada hari ke-7 kelompok kontrol asap rokok berfilter dan 3 kelompok pasta tomat dipajankan pada asap rokok berfilter. Pada hari ke-14 semua mencit dikorbankan dan dibuat sediaan histopatologis tubuli seminiferi. Data dianalisis menggunakan uji ANAVA satu arah dengan $\alpha=0,05$ yang dilanjutkan dengan uji beda rata-rata Tukey HSD. Hasil penelitian menunjukkan, terdapat perbedaan yang signifikan antara rata-rata diameter tubulus seminiferus kelompok pasta tomat dosis II ($p=0,014$) dan III ($p=0,032$) dengan kelompok kontrol asap rokok berfilter. Simpulan penelitian adalah pasta tomat meningkatkan diameter tubulus seminiferus pada mencit yang terpajan asap rokok berfilter.

Kata kunci: pasta tomat, likopen, asap rokok berfilter

*The Effect of Tomato Paste (*Solanum lycopersicum*) on the Diameter of Seminiferous Tubules in DDY Mice Exposed to Filtered Cigarette Smoke*

Abstract

*The objective of this study is to investigate the effect of tomato paste (*Solanum lycopersicum*) on the diameter of seminiferous tubule in DDY mice exposed to filtered cigarette smoke. This study is based on the real experimental prospective method using Random Complete Design with comparative characteristic. Twenty five male mice of DDY strain were randomly divided into 5 groups (n=5). On the first day aquadest control and filtered cigarette smoke control were administered with aquadest by oral gavage. At the same time the other groups were administered with 0.16 g, 0.32 g, and 0.48 g of tomato paste suspended in aquadest by oral gavage. On the seventh day filtered cigarette smoke control and three tomato paste groups were exposed to filtered cigarette smoke. On the fourteenth day the mice were sacrificed and the seminiferous tubules were taken for histopathological examination. Data were analyzed using oneway ANOVA, followed by Tukey HSD test with $\alpha=0.05$. The results show that the mean of diameter of seminiferous tubules in the second dose ($p=0,014$) and third dose ($p=0,032$) of tomato paste were significantly different from filtered cigarette smoke control. The conclusion is that tomato paste increases the diameter of seminiferous tubules exposed to filtered cigarette smoke.*

Keywords: *tomato paste, lycopene, filtered cigarette smoke*

Pendahuluan

Infertilitas pria merupakan suatu masalah yang menunjukkan peningkatan angka kejadian dalam dekade terakhir ini. Angka insidensi infertilitas yang disebabkan oleh pria adalah sebesar 50%, sehingga anggapan bahwa wanita lebih bertanggung jawab terhadap kesulitan mendapatkan anak tidak dapat dibenarkan.^{1,2} Infertilitas pria dapat disebabkan oleh infeksi saluran kemih, penyakit hubungan seksual, dan penyakit sistemik. Selain itu infertilitas pria juga dapat dipengaruhi oleh substansi kimia seperti obat-obatan, alkohol, dan rokok.^{1,3}

Pada tahun 2005, rokok mengakibatkan 5.400.000 kematian, atau rata-rata satu kematian setiap 6 detik.⁴ Asap rokok mengandung lebih dari 4000 senyawa kimia seperti nikotin, karbon monoksida, bahan-bahan karsinogenik dan bahan-bahan mutagenik seperti polonium radioaktif, benzopiren,

dimetilbenzanthrasen, dimetilnitrosamin, naftalen, dan metilnaftalen. Zat-zat kimia tersebut diatas dapat mempengaruhi reproduksi pria pada fungsi testis dan spermatogenesis.^{5,6} Asap rokok diketahui mengandung banyak radikal bebas yang berperan dalam patogenesis penyakit akibat rokok.⁷

Radikal bebas adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Radikal bebas mengambil elektron dari molekul yang terdekat untuk mencapai kestabilan, sehingga molekul yang elektronnya terambil akan menjadi radikal bebas. Jika radikal bebas sudah terbentuk dalam tubuh maka akan terjadi reaksi berantai dan menghasilkan radikal bebas baru yang jumlahnya terus bertambah.^{8,9} Radikal bebas dapat menimbulkan berbagai masalah

kesehatan termasuk gangguan dalam proses spermatogenesis.¹⁰

Asap rokok mengandung *reactive oxygen species* (ROS) dalam kadar yang tinggi seperti anion superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan radikal hidroksil (OH). ROS menginduksi reaksi inflamasi pada traktus genitalia pria dengan dilepaskannya mediator-mediator inflamasi yang mengaktifasi leukosit. Leukosit yang teraktivasi ini menghasilkan ROS dalam kadar yang tinggi pada semen, yang menimbulkan terjadinya stres oksidatif. ROS yang diproduksi sel fagosit atau oleh spermatozoa abnormal menyebabkan kerusakan pada DNA, protein, dan lipid. Kerusakan DNA mempercepat proses apoptosis sel germinal yang berakhir pada penurunan jumlah sperma dan infertilitas pria.¹¹ Penelitian yang dilakukan oleh Ahmadnia *et al*, menyatakan bahwa asap rokok dapat mengganggu proses spermatogenesis secara tidak langsung dengan mengurangi diameter tubulus seminiferus dan menurunkan jumlah sel Sertoli pada testis tikus, sehingga kedua elemen ini dapat dikaitkan dengan penurunan produksi sperma pada tikus yang dapat dianalogikan pada manusia.¹²

Radikal bebas dapat diatasi oleh antioksidan yang merupakan suatu molekul stabil yang dapat memberikan elektron kepada radikal bebas dan menetralkannya.¹³ Keseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan pada sistem intraseluler penting untuk fungsi sel, regulasi, dan adaptasi bermacam-macam kondisi pertumbuhan.¹⁴ Salah satu antioksidan potensial adalah likopen yang terkandung dalam tomat. Tomat (*Solanum lycopersicum*) termasuk salah satu buah-buahan yang populer di Indonesia. Angka konsumsi tomat di masyarakat Indonesia sangat tinggi,

dikarenakan ketersediannya yang berlimpah, harganya yang relatif murah, dan rasanya yang segar. Namun masyarakat kurang menyadari bahwa konsumsi tomat secara rutin bermanfaat besar bagi kesehatan.^{15,16}

Produk olahan tomat yang paling banyak mengandung likopen adalah pasta tomat.¹⁷ Oleh sebab itu penulis tertarik untuk melakukan penelitian menggunakan pasta tomat ini untuk mengetahui bahwa pasta tomat dapat meningkatkan diameter tubulus seminiferus mencit yang dipapar asap rokok berfilter.

Bahan dan Cara

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah 25 ekor mencit (*Mus musculus*) galur *DDY* berumur 8 minggu dengan berat badan antara 20-30 gram yang didapatkan dari Bagian Pemeliharaan Hewan PT Biofarma Bandung. Penelitian dilakukan di Pusat Penelitian Ilmu Kedokteran (PPIK) Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha Bandung, sejak bulan Desember 2008 hingga Desember 2009, dan telah diajukan dan disahkan oleh Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha-R.S. Immanuel Bandung.

Mencit dibagi secara acak dalam 5 kelompok perlakuan yang terdiri atas kelompok kontrol akuades, kelompok kontrol asap rokok berfilter, kelompok pasta tomat dosis I (PT dosis I), kelompok pasta tomat dosis II (PT dosis II), dan kelompok pasta tomat dosis III (PT dosis III), dimana setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit.

Masing-masing kelompok ditempatkan pada kandang yang berbeda pada ruangan berventilasi baik dan mendapat sinar matahari yang cukup. Kandang terbuat dari wadah plastik

dengan tutup terbuat dari kawat. Alas kandang berupa sekam kayu yang diganti setiap hari. Wadah untuk pengasapan menggunakan kotak kaca. Makanan mencit berupa pelet dan mencit diberi minum air ledeng yang diberikan setiap hari.

Semua kelompok diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari. Pada hari ke-1 kelompok kontrol akuades dan kontrol asap rokok berfilter diberi akuades per oral, sedangkan kelompok PT dosis I, II, dan III diberi pasta tomat per oral dengan 3 variasi dosis yaitu 0,16 g, 0,32 g, dan 0,48 g, dan prosedur ini dilakukan selama 2 minggu. Pada hari ke-7 kelompok kontrol asap rokok berfilter, kelompok PT dosis I, II, dan III dipajankan pada asap rokok berfilter dengan cara ditempatkan pada kotak kaca yang dilengkapi dengan *smoking apparatus* dan sebuah tabung kaca (Gambar 1). Kotak kaca ditutup, *smoking apparatus* dinyalakan sampai asap terakumulasi pada tabung dan kotak kaca, kemudian *smoking apparatus* dimatikan. Prosedur berlangsung selama 2 menit, 1 menit pemberian asap rokok lalu 1 menit istirahat dengan membuka kotak kaca agar asap keluar. Prosedur ini dilakukan 10 kali setiap hari. Pengasapan berlangsung selama 7 hari. Pada hari ke-14 semua mencit

dikorbankan dengan cara dislokasi servikal dan kemudian jaringan testis diambil untuk dibuat sediaan histopatologis dengan pewarnaan Hematoksin Eosin.

Diameter tubulus seminiferus ditentukan dengan menghitung jumlah kotak pada skala *grating* yang dipasang pada lensa okuler mikroskop cahaya, kemudian preparat diamati dengan menggunakan perbesaran objektif 40x. Jumlah kotak pada skala *grating* dihitung mulai dari membran basalis menuju membran basalis berseberangan dengan arah yang tegak lurus. Setiap preparat diamati dalam lapang pandang acak sebanyak 25 tubulus dengan cara menghitung diameter tubulus yang berada pada urutan ganjil. Kemudian jumlah kotak dikonversi ke dalam satuan mikrometer dengan rumus berikut:

Diameter tubulus =

$$\frac{{}^xS_{ok} \times 0,5}{M} \times 1000 = \dots \mu m$$

${}^xS_{ok}$ = jumlah kotak pada skala *grating*

M = pembesaran lensa objektif 40 x

Data dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji Analisis Varian (ANOVA) satu arah dengan $\alpha = 0,05$ dan dilanjutkan dengan uji beda rata-rata Tukey HSD. Tingkat kemaknaan berda-

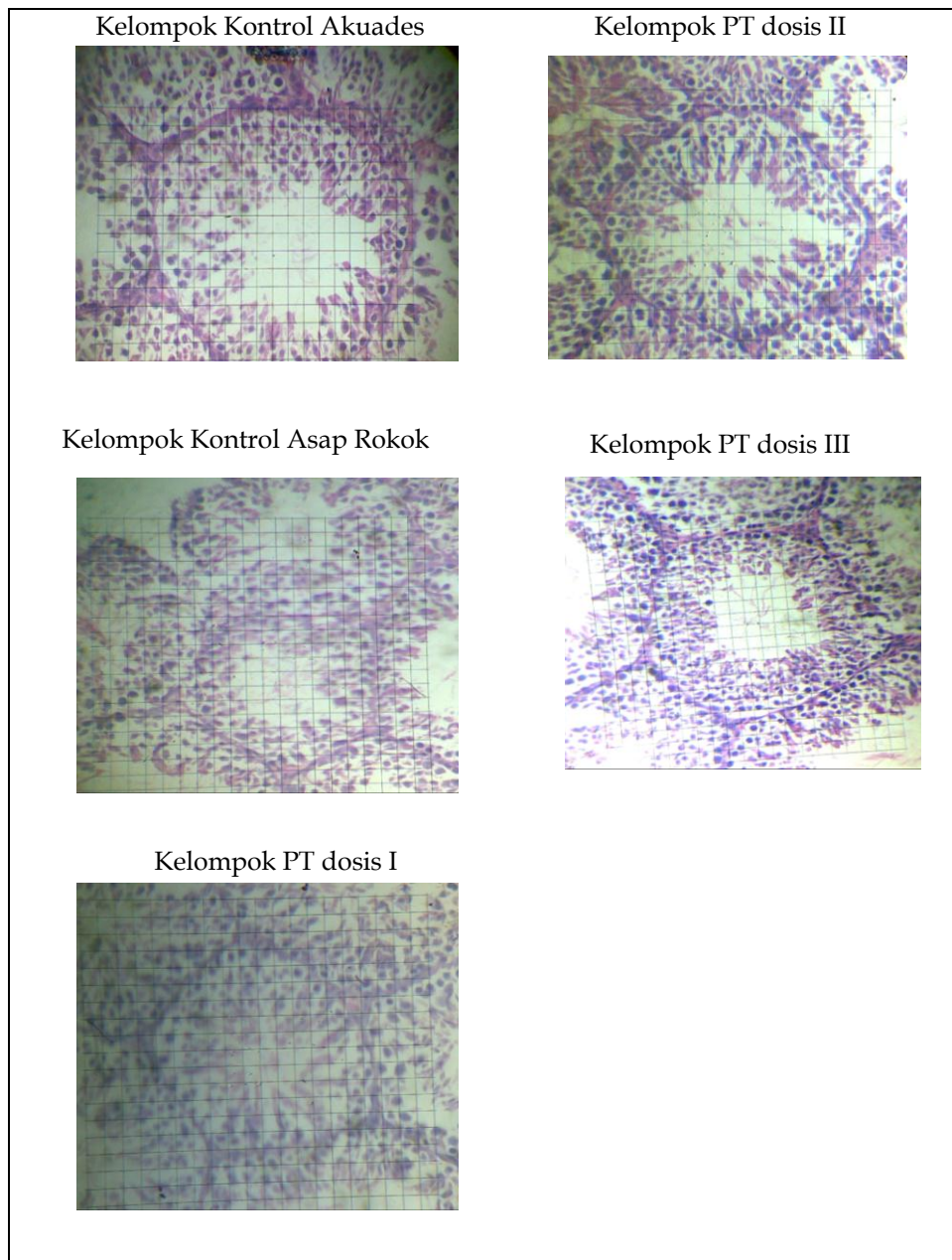


Gambar 1. Pemberian Asap Rokok dengan *Smoking Apparatus*

sarkan nilai $p \leq 0,05$. Analisis data dilakukan dengan perangkat lunak komputer.

Hasil dan Pembahasan

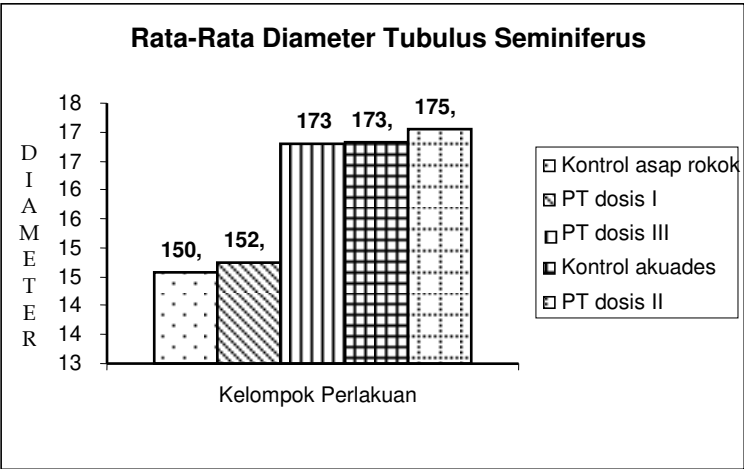
Sediaan histopatologis tubulus seminiferus mencit dari berbagai kelompok perlakuan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Sediaan Histopatologis Tubulus Seminiferus Mencit (Perbesaran 400X)

Rata-rata diameter tubulus seminiferus pada kelompok uji PT dosis I, II, dan III memberikan hasil yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol asap rokok berfilter. Gambar 2 menunjukkan nilai rata-rata diameter tubulus seminiferus per mencit pada kelima kelompok perlakuan.

Hasil analisis ANAVA satu arah menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang sangat signifikan pada rata-rata diameter tubulus seminiferus mencit antar kelompok perlakuan ($p<0,01$). Hasil uji beda rata-rata *Tukey* HSD menunjukkan adanya perbedaan antara kelompok perlakuan (Tabel 1).



Gambar 2. Rata-Rata Diameter Tubulus Seminiferus

Tabel 1. Hasil Uji Beda Rata-Rata *Tukey* HSD Diameter Tubulus Seminiferus

Kelompok		Kontrol Akuades	Kontrol Asap Rokok	PT dosis I	PT dosis II	PT dosis III
Kontrol Asap Rokok	Akuades	-	*	*	NS	NS
	Asap Rokok		-	NS	*	*
	PT dosis I			-	*	NS
	PT dosis II				-	NS
	PT dosis III					-

Keterangan :

* : signifikan

NS : non signifikan

Tabel 1 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara rata-rata diameter tubulus seminiferus mencit kelompok PT dosis II dan III dibandingkan dengan kelompok kontrol asap rokok berfilter.

Hasil statistik menunjukkan bahwa rata-rata diameter tubulus seminiferus pada mencit kelompok kontrol asap rokok berfilter dan kontrol akuades memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$), dimana kelompok kontrol asap rokok berfilter memiliki rata-rata diameter tubulus seminiferus yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol akuades yang tidak terpajan asap rokok berfilter.

Penelitian yang berjudul "*Effect of Cigarette Smoke on Spermatogenesis in Rats*" yang dilakukan oleh Ahmadnia *et al* (2007), menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang signifikan antara merokok dengan kerusakan histologis testis. Perkembangan spermatozoa mengalami penurunan pada 14 ekor tikus kelompok perlakuan dan 4 ekor tikus kelompok kontrol. Hal ini ditandai dengan reduksi rata-rata diameter tubulus seminiferus dan penurunan indeks sel Sertoli pada tikus, dimana kedua elemen tersebut berhubungan dengan penurunan proses perkembangan spermatozoa dan dapat mengganggu spermatogenesis.

Rata-rata diameter tubulus seminiferus mencit pada pemberian pasta tomat dosis I menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan kontrol asap rokok berfilter ($p > 0,05$). Hal ini berarti pemberian pasta tomat dosis I tidak memberikan pengaruh yang bermakna secara statistik terhadap diameter tubulus seminiferus mencit yang terpajan asap rokok berfilter.

Rata-rata diameter tubulus seminiferus mencit pada pemberian pasta tomat dosis II dan III menunjukkan

perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) bila dibandingkan dengan kontrol asap rokok berfilter. Hal ini berarti pemberian pasta tomat dosis II dan III berefek meningkatkan diameter tubulus seminiferus mencit yang terpajan asap rokok berfilter.

Radikal bebas (ROS) yang ditimbulkan oleh asap rokok akan menimbulkan stres oksidatif di dalam tubuh bila tidak diimbangi oleh antioksidan. Stres oksidatif tersebut akan merangsang proses-proses patologis pada sel-sel, jaringan, maupun organ tubuh sehingga menghambat perkembangan suatu organ termasuk perkembangan testis.¹⁸ Hambatan pada perkembangan testis merupakan salah satu faktor infertilitas.

Salah satu senyawa yang bersifat antioksidan adalah likopen dan senyawa ini paling banyak terkandung di dalam tomat. Hasil olahan tomat yang paling banyak mengandung likopen adalah pasta tomat. Dengan demikian, mengonsumsi pasta tomat diharapkan dapat memperbaiki kondisi testis.

Simpulan

Pasta tomat (*Solanum lycopersicum*) meningkatkan diameter tubulus seminiferus mencit yang terpajan asap rokok berfilter.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek pasta tomat dan produk olahan tomat lainnya terhadap jumlah sel Sertoli yang berperan dalam spermatogenesis yang diinduksi asap rokok.

Daftar Pustaka

1. Aucky Hinting. Study protokol penatalaksanaan dan efektivitas pengobatan infertilitas pria. [cited 2008 November 6]. Available from: http://digilib.litbang.depkes.go.id/go_pid=jkpkbppk-gdl-res-2000-aucky-989_infertilit&node=124&start=836, diakses tanggal 6 November 2008.
2. Akmal Taher. Infertilitas pada pria. [cited 2008 November 6]. Available from: <http://www.asrihospital.com/?q=node/52>.
3. Wald M, Sandlow JL, Fisher L. Male infertility. [cited 2008 October 23]. Available from: <http://www.uihealthcare.com/topics/medicaldepartments/urology/maleinfertility/index.html>.
4. WHO. 10 facts about tobacco and second-hand smoke. [cited 2009 March 24]. Available from: <http://www.who.org.int>.
5. Zavos PM, Zarmakoupis-Zavos PN. Impact of cigarette smoking on human reproduction: is effects on male and female fecundity. *Technol*. 1999;(6):9-16.
6. Van der Vliet A. Nitrogen oxides and cigarette smoke-induced injury. [cited 2008 November 6]. Available from: http://www.trdrp.org/research/PageGrant.asp?grant_id=532. 2001.
7. Lane JD, Brauer LH, Behm FM, Westman FC, Perkin C, Rose JE. Nicotine and smoking bhavior. *Nicotine and Tobacco Res*. 2001; 3(2):101-9.
8. Rani Sauriasari. Mengenal dan menangkal radikal bebas. [cited 2009 November 2]. Available from: http://www.chem-is-try.org/artikel_kimia/biokimia/mengenal-dan-menangkal-radikal-bebas.
9. Hery Winarsi. Antioksidan alami dan radikal bebas. Yogyakarta: Kanisius; 2007.
10. O'Donnell L, Robertson KM, Jones ME, Simpson ER. Estrogen and spermatogenesis. *Endocrine Rev*. 2001; 22(3): 289-318.
11. Colagar AH, Jorsaraee GA, Marzony ET. Cigarette smoking and the risk of male infertility. *Pak J Biol Sci*. 2007; 10(21): 3870-74.
12. Ahmadnia H, Ghanbari M, Moradi MR, Dalouee MK. Effect of cigarette smoke on spermatogenesis in rats. *Urol J*. 2007; 3 (4): 159-63.
13. Baghchi K, Puri S. Free radicals and antioxidants in health and disease. *Eastern Mediterranean Health J*. 1998; Vol.4, Issue 2. p. 350-60.
14. Nordberg J, Arner ES. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radic Biol Med*. 2001; 31(11):1287-312.
15. Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and its role in human health and chronic disease. *CMAJ*. 2000; 163(6): 739-44.
16. Muhammad Ahkam Subroto. Real food true health. Jakarta: PT AgroMedia Pustaka; 2008.
17. Tsang G. 2006. Lycopene in tomatoes and prostate cancer. [cited 2008 November 6]. Available from: <http://www.healthcastle.com/lycopene-prostate-cancer.html>.
18. Agarwal A, Prabakaran SA, Said TM. Prevention of Oxidative Stress Injury to Sperm *J Androl*. 2005; 26(6):654-60.